Deutsch

DiaMed
A Division of Bio-Rad

B109796 04.08

"DiaCell I+II" und "DiaCell I+II+III"
Testerythrozyten für den Antikörper-Suchtest

Einleitung

Die Zuverlässigkeit des Antikörpernachweises ist im wesentlichen von der Verfügbarkeit von Testerythrozyten mit geeigneten Antigenen und der Empfindlichkeit der verwendeten Methode abhängig.

Die Anforderungen an die Antigen-Konfiguration sind streng: sie muss die Feststellung der gewöhnlich auftretenden Antikörper mit potentieller klinischer Signifikanz ermöglichen. Da einige dieser Antikörper sich über den Dosis Effekt manifestieren, ist es empfehlenswert, dass die Antigene des Rh-, Duffy-, Kidd und MNS Blutgruppensystem auf den Suchzellen in homozygoter Form vorliegen. Bestimmte Richtlinien verlangen, dass sowohl die Lewis-Antigene, als auch das seltene Kp(a) (KEL3) vorhanden sein müssen.

Es wird allgemein als sicherer betrachtet zwei Testmethoden zu kombinieren, den indirekten Antiglobulintest (IAT) und die Enzymtechnik, die die Reaktionen bestimmter Antikörper erhöht, vor allem die vom Rh-, Kell- und Kidd-System.

In Anbetracht dieser Anforderung bietet DiaMed gebrauchsfertige Testerythrozyten für den IAT, die einstufige Enzymtechnik oder für die Bestimmung von Kälteagglutininen mit der entsprechenden Methode an.

Reagenzien

IVD

Testerythrozyten der Blutgruppe O von Einzelspendern in einer Suspension von 3,0% ±1,0, in 10 mL Fläschchen.
Konservierungsmittel: die Antibiotika Trimethoprim und Sulfamethoxazol.

• "DiaCell I+II" ($R_1R_1+R_2R_2$) oder ($R_1{}^wR_1+R_2R_2$)

• "DiaCell I+II+III" ($R_1{}^wR_1+R_2R_2+rr$)

Achtung: *Die Ausgangsmaterialien, aus denen diese Produkte hergestellt wurden, haben sich bei der Prüfung mit zugelassenen Reagenzien als nicht reaktiv für HBsAg, HCV und HIV (1 und 2) erwiesen. Allerdings kann kein verfügbares Testverfahren das Nichtvorhandensein infektiöser Substanzen garantieren. Aus Humanblut gewonnene Produkte sollten immer als potentiell infektiös angesehen werden.*

2 °C – 8 °C

Stabilität: siehe Verfallsdatum auf dem Etikett.

Zusätzlich benötigte Reagenzien

• 0,9%ige isotonische Kochsalzlösung
• Verstärkermedien z.B. Rinderalbumin 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• Enzymreagenzien z.B "DiaBrom" für die Enzymtechnik (Id-n°: 12140)
• Antihumanglobulinserum z.B. "DiaClon Coombs-serum" (Id-n°: 14060 oder 14070)
• IgG-beladene Erythrozyten, z.B "Coombs-Control IgG" (Id-n°: 16070)

(siehe diesbezügliche Packungsbeilage)

Weitere erforderliche Materialien

• Suspensionsröhrchen
• Röhrchenständer
• Pipette
• Immunhämatologische Zentrifuge

Probenmaterial

Für verlässliche Resultate sollte die Bestimmung mit frisch abgenommenen Proben durchgeführt werden oder in Übereinstimmung mit lokalen Laborvorschriften für die Akzeptanz von Probenmaterial erfolgen. Vorzugsweise sollte die Probengewinnung in den Antikoagulantien Citrat, EDTA oder CPD-A erfolgen. Native Proben (kein Antikoagulanz) können auch verwendet werden.

Wird Serum anstelle von Plasma verwendet, sollte dieses vor Testansatz 10 Minuten bei 1500 g zentrifugiert werden, damit keine störenden Fibrinreste in dem Testansatz gelangen.

Vorbereitung der Blutprobe

a) Erythrozytensuspension für die Eigenkontrolle

Eine 3-5%ige Erythrozytensuspension in isotonischer Kochsalzlösung wie folgt zubereiten:

1. 0,5 mL der isotonischen Kochsalzlösung in ein sauberes Glasröhrchen geben.
2. 1 Tropfen (50 µL) Vollblut oder 25 µL Erythrozytenkonzentrat zugeben; leicht mischen.

b) Plasma oder Serum

Wird das Plasma oder Serum nicht unmittelbar nach dem Zentrifugieren verwendet, sollte es max. 48 Stunden bei 2-8 °C, anschliessend bei -20 °C aufbewahrt werden.

Kontrollen

Bekannte Antigen-positive und -negative Erythrozyten sollten in Übereinstimmung mit den gültigen Richtlinien zur Qualitätssicherung mitgeführt werden.

Test-durchführungen

I. 3-Stufen Antihumanglobulintest mit Rinder-Albumin
Testerythrozyten vor Gebrauch auf Raumtemperatur bringen.

1. Stufe (NaCl-Phase):
1. Röhrchen mit den jeweiligen Zellen von "DiaCell I+II" oder "DiaCell I+II+III" und der Eigenkontrolle beschriften.
2. In jedes Röhrchen je 1 Tropfen (50 µL) der entsprechenden Testerythrozyten und der Erythrozytensuspension des Patienten oder Spender für die Eigenkontrolle dazugeben.
3. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) des zu untersuchenden Serums oder Plasmas dazugeben.
4. Leicht mischen und während 5 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C) inkubieren.
5. 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
6. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination und/oder Hämolyse beobachten.

2. Stufe (Albumin-Phase):
7. In jedes Röhrchen 3 Tropfen (150 µL) Albumin 30% geben.
8. Leicht mischen und 15-30 Minuten bei 37 °C inkubieren.
9. 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
10. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination beobachten.

3. Stufe (Antihumanglobulin-Phase):
11. Inhalt der Röhrchen 3 x mit isotonischer Kochsalzlösung waschen. Überstand jeweils vollständig abgiessen.
12. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) "DiaClon Coombs-serum" dazugeben.
13. Leicht mischen und 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
14. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination beobachten.
15. Negative Reaktionen mit "DiaMed Coombs-Control IgG" bestätigen.

English

DiaMed
A Division of Bio-Rad

B109796 04.08

"DiaCell I+II" and "DiaCell I+II+III"
Red cell reagents for antibody screening

Introduction

The reliability of antibody detection is largely dependent on the availability of test cells with appropriate antigens and on the sensitivity of the test methods used.

The requirements for antigen configuration are stringent: it must allow the detection of commonly encountered antibodies of potential clinical significance. Since some of these antibodies show a dosage effect, it is advisable that screening cells possess antigens with presumed double dose expression within the Rh, Duffy, Kidd and MNS blood group systems. Certain guidelines require that the Lewis antigen be present, as should the rare antigen Kp(a) (KEL3).

It is generally considered most effective to combine two test methods, the indirect antiglobulin test (IAT) and an enzyme technique, which enhances the reactions of certain antibodies, notably in the Rh, Kell and Kidd Systems.

Considering these requirements, DiaMed provides ready-to-use test cell reagents for the IAT, one-stage enzyme technique or for the detection of cold agglutinins by the appropriate technique.

Reagents

IVD

Group O red cells from single donors, in a suspension of 3,0% ±1,0, in 10 mL vials.

Preservatives: the antibiotics trimethoprime and sulfamethoxazole.

• "DiaCell I+II" ($R_1R_1+R_2R_2$) or ($R_1{}^wR_1+R_2R_2$)

• "DiaCell I+II+III" ($R_1{}^wR_1+R_2R_2+rr$)

Caution: *The source materials from which these products were manufactured, were found non-reactive for HBsAg, HCV and HIV (1+2) when tested with licensed reagents. However, no known test method can assure that infectious agents are absent. Products from human blood should be considered potentially infectious.*

2 °C – 8 °C

Stability: see expiry date on label.

Additional reagents required

• 0,9% isotonic saline solution
• Potentiating agents such as bovine albumin 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• Enzyme reagent such as "DiaBrom" to be used in enzyme techniques (Id-n°: 12140)
• Anti-human globulin (AHG) serum such as "DiaClon Coombs-serum" (Id-n°: 14060 or 14070)
• Cells coated with IgG such as "Coombs-Control IgG" (Id-n°: 16070)

(see related package insert)

Further materials required

• Suspension tubes
• Tube rack
• Pipette
• Immunohaematological centrifuge

Sample material

For optimal results, the determination should be performed using a freshly drawn sample, or in accordance with local laboratory procedures for sample acceptance criteria. Preferably, blood samples should be drawn into citrate, EDTA or CPD-A anticoagulant. Samples drawn into plain tubes (no anticoagulant) may also be used.

When the use of serum instead of plasma is required, the serum must be well cleared, by centrifugation at 1500 g for 10 minutes, before use avoid fibrin residues, which may interfere with the reaction pattern.

Preparation of blood sample

a) Red cells suspension for autocontrol

Prepare a 3-5% red cell suspension in isotonic saline solution as follows:

1. Dispense 0,5 mL of isotonic saline solution into a clean tube.
2. Add 1 drop (50 µL) of whole blood or 25 µL of packed cells; mix gently.

b) Plasma or serum

Samples that are not for immediate testing should be stored at 2-8 °C after separation for a maximum of 48 hours, thereafter at -20 °C.

Controls

Known positive and negative samples should be included in accordance with the relevant guidelines of quality assurance.

Test procedures

I. 3-Step Anti-human globulin test with bovine albumin
Allow test cell reagents to reach room temperature before use.

1st step (NaCl-phase):
1. Identify test tubes with the respective cells of "DiaCell I+II"or "DiaCell I+II+III" and the autocontrol.
2. Add to each tube 1 drop (50 µL) of the corresponding test cells or the patient's or donor's red cell suspension for the autocontrol.
3. Add to each tube 2 drops (100 µL) of the serum or plasma to be tested.
4. Mix gently and incubate for 5 minutes at room temperature (18-25 °C).
5. Centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
6. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination and/or haemolysis.

2nd step (Albumin-phase):
7. Add to each tube 3 drops (150 µL) of bovine albumin 30%.
8. Mix gently and incubate for 15-30 minutes at 37 °C.
9. Centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
10. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination.

3rd step (Anti-human globulin phase):
11. Wash contents of tubes 3 times with isotonic saline solution and remove supernatant.
12. Add to each tube 2 drops (100 µL) of "DiaClon Coombs-serum".
13. Mix gently and centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
14. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination.
15. Confirm negative results with "DiaMed Coombs-Control IgG".

Français

DiaMed
A Division of Bio-Rad

B109796 04.08

"DiaCell I+II" et "DiaCell I+II+III"
Hématies-tests pour la recherche d'anticorps

Introduction

La fiabilité de la détection d'anticorps dépend largement de la disponibilité d'hématies-tests avec des antigènes appropriés et de la sensibilité des méthodes.

Les exigences de la configuration antigénique sont rigoureuses: celles-ci doivent permettre la détection des anticorps cliniquement significatifs. Certains de ces anticorps présentent un effet de dose, il est donc souhaitable que les hématies-tests soient homozygotes dans les systèmes antigéniques concernés: Rhésus, Duffy, Kidd et système MNSs. Selon certaines directives, l'antigène Lewis, ainsi que l'antigène Kp(a) (KEL3) devraient être également inclus.

Il est généralement admis comme plus sûr de combiner le test indirect à l'antiglobuline (TIA) et la technique enzymatique, qui augmente la réactivité de certains anticorps, notamment ceux des systèmes Rh, Kell et Kidd.

En prenant en considération ces exigences, DiaMed fournit des hématies-tests prêtes à l'emploi pour le TIA, le test enzymatique à un temps ou la détection d'anticorps froids par la méthode appropriée.

Réactifs

IVD

Hématies-tests du groupe sanguin O provenant de donneurs individuels, en suspension à 3,0% ±1,0 en flacons de 10 mL.
Conservateurs: les antibiotiques triméthoprime et sulfaméthoxazole.

• "DiaCell I+II" ($R_1R_1+R_2R_2$) ou ($R_1{}^wR_1+R_2R_2$)

• "DiaCell I+II+III" ($R_1{}^wR_1+R_2R_2+rr$)

Attention: *Les matières utilisées pour la fabrication de ces produits n'ont montré aucune réaction lors des dépistages de l'AgHBs, HIV1, HIV2 et HCV avec des réactifs licenciés. Cependant aucune des méthodes connues ne peut assurer l'absence d'agents infectieux. Les produits ayant pour origine du sang humain doivent être considérés comme des produits potentiellement infectieux.*

2 °C – 8 °C

Stabilité: voir la date de péremption sur l'étiquette.

Réactifs supplémentaires nécessaires

• Solution saline isotonique 0,9%
• Agent de potentialisation tel que l'albumine bovine 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• Réactif enzymatique, tel que "DiaBrom", à utiliser en techniques enzymatiques (Id-n°: 12140)
• Réactif à l'antiglobuline humaine tel que le réactif DiaMed "DiaClon Coombs-serum" (Id-n°: 14060 ou 14070)
• Hématies enrobées d'IgG telles que les hématies DiaMed "Coombs-Control IgG" (Id-n°: 16070)

(voir mode d'emploi correspondant)

Matériaux supplémentaires nécessaires

• Tubes pour suspensions
• Portoir de tubes
• Pipette
• Centrifugeuse immunohématologique

Echantillons

Afin d'obtenir des résultats fiables, la détermination devrait se faire sur du matériel fraîchement prélevé ou conforme aux exigences du laboratoire auquel la demande d'analyses est adressée. L'échantillon devrait être prélevé de préférence sur anticoagulant citrate, EDTA ou CPD-A. Du sang prélevé sans anticoagulant (natif) peut également être utilisé.

Lorsque l'utilisation de sérum est préférable à celle de plasma, le sérum doit être obtenu par centrifugation à 1500 g pendant 10 minutes pour éviter des résidus de fibrine qui pourraient interférer avec la réaction.

Préparation de l'échantillon de sang

a) Suspension d'hématies pour l'autocontrôle

Préparer une suspension d'hématies à 3-5% en solution saline isotonique comme suit:

1. Pipetter 0,5 mL de la solution saline isotonique dans un tube en verre propre.
2. Ajouter 1 goutte (50 µL) de sang total ou 25 µL de culot d'hématies; mélanger doucement.

b) Plasma ou sérum

Si les échantillons ne sont pas testés immédiatement, ils devront être conservés à 2-8 °C. Pour une conservation supérieure à 48 heures, il est conseillé de les congeler à -20 °C.

Contrôles

Des échantillons positifs et négatifs connus devront être inclus en concordance avec les régulations valables pour l'assurance de qualité.

Méthodes

I. Test à l'antiglobuline humaine en milieu albumineux, en 3 phases
Ramener les hématies-tests à température ambiante avant utilisation.

1ère phase (phase NaCl):
1. Identifier les tubes avec les hématies correspondantes de "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" et l'autocontrôle.
2. Distribuer dans chaque tube 1 goutte (50 µL) d'hématies-tests correspondantes et la suspension d'hématies du patient ou donneur pour l'autocontrôle.
3. Ajouter dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) du sérum ou plasma à examiner.
4. Mélanger doucement et incuber pendant 5 minutes à température ambiante (18-25 °C).
5. Centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
6. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique ou une éventuelle hémolyse.

2ème phase (phase albumine):
7. Ajouter dans chaque tube 3 gouttes (150 µL) d'albumine bovine 30%.
8. Mélanger doucement et incuber pendant 15 à 30 minutes à 37 °C.
9. Centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
10. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique.

3ème phase (phase à l'antiglobuline humaine):
11. Laver 3 fois le contenu des tubes avec la solution saline isotonique et décanter le surnageant.
12. Distribuer dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) de réactif "DiaClon Coombs-serum".
13. Mélanger doucement et centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
14. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique.
15. Confirmer les réactions négatives avec les hématies "DiaMed Coombs-Control IgG".

II. Test enzymatique (avec "DiaBrom")

1. Identifier les tubes avec les hématies correspondantes de "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" et l'autocontrôle.
2. Distribuer dans chaque tube 1 goutte (50 µL) d'hématies-tests correspondantes et la suspension d'hématies du patient ou du donneur pour l'autocontrôle.
3. Ajouter dans chaque tube 1 goutte (50 µL) de "DiaBrom".
4. Mélanger doucement et laisser reposer pendant 1-2 minutes à température ambiante (18-25 °C).
5. Ajouter dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) du sérum ou plasma à examiner.
6. Mélanger doucement et incuber pendant 15 minutes à 37 °C (ne pas dépasser les 15 minutes).
7. Centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
8. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique ou une éventuelle hémolyse.

III. Technique de LISS (avec DiaLISS, réactif de LISS mod.)

1ère phase (phase NaCl):

1. Identifier les tubes avec les hématies correspondantes de "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" et l'autocontrôle.
2. Distribuer dans chaque tube 1 goutte (50 µL) d'hématies-tests correspondantes et la suspension d'hématies du patient ou du donneur pour l'autocontrôle.
3. Ajouter dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) du sérum ou plasma à examiner.
4. Mélanger doucement et incuber pendant 5 minutes à température ambiante (18-25 °C).
5. Centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
6. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique ou une éventuelle hémolyse.

2ème phase (phase LISS/antiglobuline humaine):

7. Ajouter dans chaque tube 4 gouttes (200 µL) de "DiaLISS".
8. Mélanger doucement et incuber pendant 5-10 minutes à 37 °C.
9. Laver 3 fois le contenu des tubes avec la solution saline isotonique et décanter le surnageant.
10. Distribuer dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) de réactif "DiaClon Coombs-serum".
11. Mélanger doucement et centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
12. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique.
13. Confirmer les réactions négatives avec les hématies "DiaMed Coombs-Control IgG".

IV. Test pour détection d'anticorps froids

1. Identifier les tubes avec les hématies correspondantes de "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" et l'autocontrôle.
2. Distribuer dans chaque tube 1 goutte (50 µL) d'hématies-tests correspondantes et la suspension d'hématies du patient ou du donneur pour l'autocontrôle.
3. Ajouter dans chaque tube 2 gouttes (100 µL) du sérum ou plasma à examiner.
4. Mélanger doucement et incuber pendant 30 minutes à 4 °C.
5. Centrifuger 20 secondes à 1000 g ou 1 minute à 125 g.
6. Resuspendre doucement les hématies et, au-dessus d'un éclairage indirect, observer l'agglutination macroscopique ou une éventuelle hémolyse.

Interprétation des résultats

Réactions pour la recherche d'anticorps

• Une réaction négative indique l'absence d'anticorps irrégulier détectable dans le sérum ou plasma du patient ou donneur.
• Une réaction positive indique la présence d'anticorps irréguliers. Inscrire les résultats obtenus sur la table d'antigènes jointe. Vérifier que le numéro de lot des hématies tests "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" corresponde au numéro de lot indiqué sur la table d'antigènes. Selon le type de réaction et la configuration antigénique, la spécificité de l'anticorps présent peut, dans la plupart des cas, être suspecté. Procéder aux tests complémentaires pour l'identification de l'anticorps.
• Une réaction positive avec une ou plusieurs des hématies-tests et un autocontrôle négatif indiquent la présence d'anticorps spécifique (voir Remarques).
• Une réaction positive avec toutes les hématies-tests et un autocontrôle positif est probablement due à un auto-anticorps.
• Dans le cas d'une réaction positive avec toutes les hématies-tests et un autocontrôle positif, mais avec une ou plusieures hématies-tests montrant une réaction positive plus forte que l'autocontrôle, un anticorps spécifique peut être présent et l'échantillon du patient devra être soumis à d'autres tests, afin d'établir la spécificité de l'anticorps.

Remarques

1. Il est recommandé d'inclure le sérum de contrôle "DiaLISS" pour vérifier l'efficacité LISS/antiglobuline humaine (voir mode d'emploi "DiaLISS" et "DiaLISS control").
2. Dans chaque procédure, l'hémolyse des hématies-tests devrait être interprétée positive.
3. Comme toutes les procédures suivant les règles des BPL, la sensibilité des techniques être validée par l'utilisation des anticorps avec concentration connue. Le réactif de référence DiaMed anti-D permet d'effectuer des contrôles réguliers techniques de recherche d'anticorps (voir mode d'emploi correspondant).

Limites

a) Les méthodes enzymtatiques à un temps sont connues comme étant moins sensibles pour la détection d'anticorps que la méthode à deux temps.
b) Les conditions optimales de réaction peuvent varier considérablement d'un type d'anticorps à un autre. En conséquence, toute procédure de test unique peut être insuffisante pour révéler tous les anticorps et des procédures de tests combinés devront être appliquées.
c) Certains médicaments sont connus pour entraîner des résultats positifs avec le test à l'antiglobuline humaine.
d) Quelques états pathologiques ont été décrits lors de résultats positifs avec le test à l'antiglobuline humaine.
e) Des contaminations, bactériennes ou autres, du matériel utilisé peuvent provoquer des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.
f) L'observation stricte des méthodes et l'emploi de l'équipement recommandé sont essentiels. L'équipement doit être régulièrement contrôlé selon les procédures des BPL.
g) Une phase de lavage incorrecte ou la présence de globulines humaines dans le tube peuvent neutraliser le réactif à l'antiglobuline humaine et être ainsi à l'origine de réactions faussement faibles voire faussement négatives.
h) Une agitation non appropriée en fin de procédure peut altérer le degré de positivité des réactions.

Bibliographie

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Produits

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL .....REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL .....REF 109793

Ces produits sont garantis quant à leurs propriétés et qualités stipulées sur l'étiquette et dans le mode opératoire. Le fabricant décline toute responsabilité pour les cas où ces produits seraient employés ou vendus à d'autres usages.

DiaMed SA, 1785 Cressier s/Morat, Suisse

CE 0123

II. Enzyme test (with "DiaBrom")

1. Identify test tubes with the respective cells of "DiaCell I+II"or "DiaCell I+II+III" and the autocontrol.
2. Add to each tube 1 drop (50 µL) of the corresponding test cells and the patient's or donor's red cell suspension for the autocontrol.
3. Add to each tube 1 drop (50 µL) of "DiaBrom".
4. Mix gently and incubate for 1-2 minutes at room temperature (18-25 °C).
5. Add to each tube 2 drops (100 µL) of the serum or plasma to be tested.
6. Mix gently and incubate for 15 minutes at 37 °C (do not exceed 15 minutes).
7. Centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
8. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination and/or haemolysis.

III. LISS technique with DiaLISS (mod. LISS reagent)

1st step (NaCl-Phase):

1. Identify test tubes with the respective cells of "DiaCell I+II"or "DiaCell I+II+III" and the autocontrol.
2. Add to each tube 1 drop (50 µL) of the corresponding test cells and the patient's or donor's red cell suspension for the autocontrol.
3. Add to each tube 2 drops (100 µL) of the serum or plasma to be tested.
4. Mix gently and incubate for 5 minutes at room temperature (18-25 °C).
5. Centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
6. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination and/or haemolysis.

2nd step (LISS-Anti-human globulin phase):

7. Add to each tube 4 drops (200 µL) of "DiaLISS".
8. Mix gently and incubate for 5-10 minutes at 37 °C.
9. Wash contents of tubes 3 times with isotonic saline solution and remove supernatant.
10. Add to each tube 2 drops (100 µL) of "DiaClon Coombs-serum".
11. Mix gently and centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
12. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination.
13. Confirm negative reactions with "DiaMed Coombs-Control IgG".

IV. Test for the detection of cold agglutinins

1. Identify test tubes with the respective cells of "DiaCell I+II"or "DiaCell I+II+III" and the autocontrol.
2. Add to each tube 1 drop (50 µL) of the corresponding test cells and the patient's or donor's red cell suspension for autocontrol.
3. Add to each tube 2 drops (100 µL) of the serum or plasma to be tested.
4. Mix gently and incubate for 30 minutes at 4 °C.
5. Centrifuge for 20 seconds at 1000 g or 1 minute at 125 g.
6. Gently resuspend the cells and, over an indirect light source, observe macroscopically for agglutination and/or haemolysis.

Interpretation of the results

Reactions for antibody screening

• A negative reaction indicates the absence of detectable irregular antibodies in the patient's or donor's serum or plasma.
• A positive reaction indicates the presence of irregular antibodies. Enter the reactions obtained on the antigen table. Verify that the lot number of the test cell reagents "DiaCell I+II" or "DiaCell I+II+III" corresponds to the lot number indicated on the antigen table. Following the reaction pattern and the antigen configuration, the type of antibody present may be indicated. Perform the usual further tests to identify the antibody.
• A positive reaction with one or more test cells and a negative autocontrol suggest the presence of a specific antibody (as described under Remarks).
• A positive reaction with all test cells and a positive autocontrol may be due to an autoantibody.
• Where there is a positive reaction with all test cells and a positive autocontrol but with one or more test cells showing a stronger positive reaction than the autocontrol, the patient sample should be submitted for further testing, to investigate the possibility of an underlying allo-antibody.

Remarks

1. It is advisable to use "DiaLISS" control serum to monitor the LISS-anti-human globulin test (please consult package inserts "DiaLISS" and "DiaLISS control").
2. Haemolysis of the test cells in any procedure should be interpreted as a positive reaction.
3. As for all procedures covered by GLP rules, the sensitivity of the above procedures should be validated using antibodies of known potency. The DiaMed Anti-D reference reagent provides the means to regularly perform controls for all antibody detection procedures (see related package insert).

Limitations

a) One-stage enzyme methods are known to be less sensitive for antibody detection than the two-stage technique.
b) The optimal reaction conditions may vary considerably from one type of antibody to another. Consequently, one single test method may be insufficient to detect all antibodies and combined test procedures should be applied.
c) Certain drugs are known to cause positive reactions in anti-human globulin procedures.
d) Some pathological conditions are also reported as causing positive reactions in anti-human globulin procedures.
e) Bacterial or other contamination of materials used can cause false positive or false negative results.
f) Strict adherence to the procedures and recommended equipment is essential. The equipment should be checked regularly according to GLP procedures.
g) An inadequate wash phase or the presence of human globulins in the glassware may neutralise the anti-humanglobulin serum, resulting in a falsely weak or negative reaction.
h) Inappropriate agitation of the completed test may downgrade positive reactions.

Bibliography

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Products

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL .....REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL .....REF 109793

These products are guaranteed to perform as described on the label and in the instruction sheet. The manufacturer declines all responsibility arising out of the use or sale of these products in any way or for any purpose other than those described therein.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Switzerland

CE 0123

II. Enzymtest (mit "DiaBrom")

1. Röhrchen mit den jeweiligen Zellen von "DiaCell I+II" oder "DiaCell I+II+III" und der Eigenkontrolle beschriften.
2. In jedes Röhrchen je 1 Tropfen (50 µL) der entsprechenden Testerythrozyten und der Erythrozytensuspension des Patienten oder Spender für die Eigenkontrolle dazugeben.
3. In jedes Röhrchen 1 Tropfen (50 µL) "DiaBrom" dazugeben.
4. Leicht mischen und 1-2 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C) inkubieren.
5. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) des zu untersuchenden Serums oder Plasmas dazugeben.
6. Leicht mischen und 15 Minuten bei 37 °C inkubieren (15 Minuten nicht überschreiten).
7. 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
8. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination und/oder Hämolyse beobachten.

III. LISS-Technik mit DiaLISS (mod. LISS-Reagenz)

1. Stufe (NaCl-Phase):

1. Röhrchen mit den jeweiligen Zellen von "DiaCell I+II" oder "DiaCell I+II+III" und der Eigenkontrolle beschriften.
2. In jedes Röhrchen je 1 Tropfen (50 µL) der entsprechenden Testerythrozyten und der Erythrozytensuspension des Patienten oder Spender für die Eigenkontrolle dazugeben.
3. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) des zu untersuchenden Serums oder Plasmas dazugeben.
4. Leicht mischen und 5 Minuten bei Raumtemperatur (18-25 °C) inkubieren.
5. 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
6. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination und/oder Hämolyse beobachten.

2. Stufe (LISS-Antihumanglobulinphase):

7. In jedes Röhrchen 4 Tropfen (200 µL) "DiaLISS" dazugeben.
8. Leicht mischen und 5-10 Minuten bei 37 °C inkubieren.
9. Inhalt der Röhrchen 3 x mit isotonischer Kochsalzlösung waschen. Ueberstand jeweils vollständig abgiessen.
10. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) "DiaClon Coombs-serum" dazugeben.
11. Leicht mischen und 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
12. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination beobachten.
13. Negative Reaktionen mit "DiaMed Coombs-Control IgG" bestätigen.

IV. Test für den Nachweis von Kälteagglutininen

1. Röhrchen mit den jeweiligen Zellen von "DiaCell I+II" oder "DiaCell I+II+III" und der Eigenkontrolle beschriften.
2. In jedes Röhrchen je 1 Tropfen (50 µL) der entsprechenden Testerythrozyten und der Erythrozytensuspension des Patienten oder Spender für die Eigenkontrolle dazugeben.
3. In jedes Röhrchen 2 Tropfen (100 µL) des zu untersuchenden Serums oder Plasmas dazugeben.
4. Leicht mischen und während 30 Minuten bei 4 °C inkubieren.
5. 20 Sekunden bei 1000 g oder 1 Minute bei 125 g zentrifugieren.
6. Erythrozyten vorsichtig resuspendieren und über einer indirekten Lichtquelle makroskopisch auf Agglutination und/oder Hämolyse beobachten.

Interpretation der Ergebnisse

Reaktionen des Antikörper-Suchtests

• Eine negative Reaktion deutet darauf hin, dass im Serum oder Plasma des Patienten oder Spender keine nachweisbaren irregulären Antikörper vorhanden sind.
• Eine positive Reaktion weist auf irreguläre Antikörper hin. Die Reaktionen in die Antigentabelle eintragen. Überprüfen, ob die Chargennummer der Testerythrozyten "DiaCell I+II" oder "DiaCell I+II+III" der in der Antigentabelle angegebenen Chargennummer entspricht. Anhand des Reaktionsmusters und der Antigenkonfiguration kann auf den Typ des vorhandenen Antikörpers geschlossen werden. Die üblichen weiteren Tests zur Identifizierung des Antikörpers ausführen.
• Eine positive Reaktion mit einer oder mehreren Testerythrozyten und eine negative Eigenkontrolle weisen auf einen spezifischen Alloantikörper hin (siehe Anmerkungen).
• Eine positive Reaktion mit allen Testerythrozyten und eine positive Eigenkontrolle sind wahrscheinlich auf Autoantikörper zurückzuführen.
• Wenn bei allen Testerythrozyten und der Eigenkontrolle eine positive Reaktion auftritt, jedoch eine oder mehrere Testerythrozyten eine stärker positive Reaktion zeigen als die Eigenkontrolle, so ist davon auszugehen, dass neben der nichtspezifischen Reaktion eventuell ein spezifischer Antikörper vorhanden ist. Die Probe des Patienten sollte weiteren Tests unterzogen werden.

Anmerkungen

1. Es wird empfohlen "DiaLISS"-Kontrollserum zu verwenden, um den LISS-Antihumanglobulintest zu bestätigen (siehe diesbezügliche Packungbeilage "Dia-LISS" und "DiaLISS control").
2. Eine Hämolyse der Testerythrozyten in jedem Verfahren sollte als positive Reaktion interpretiert werden.
3. Wie bei allen Methoden, abgesichert durch GLP, sollte die Sensitivität der erwähnten Verfahren durch Antikörper mit bekannter Konzentration bestätigt werden. DiaMed Anti-D Referenz-Reagenz steht zur regelmässigen Kontrolle aller Antikörper Nachweisverfahren zur Verfügung (siehe diesbezügliche Packungsbeilage).

Ein-schränkungen

a) Im Vergleich zur Zwei-Stufen Enzymtechnik sind Ein-Stufen Enzym-Methoden als weniger empfindlich für den Antikörpernachweis bekannt.
b) Die optimalen Reaktionsbedingungen können erheblich von einem Antikörpertyp zum anderen schwanken. Folglich kann eine einzige Testmethode für den Nachweis aller Antikörper unzureichend sein, und es sollten unterschiedliche Verfahren miteinander kombiniert werden.
c) Es ist bekannt, dass bestimmte Medikamente positive Reaktionen im AHG-Test hervorrufen können.
d) Einige Krankheitsbilder können positive AHG-Reaktionen hervorrufen.
e) Bakterielle oder andere Kontaminationen des verwendeten Materials können falsch positive oder falsch negative Ergebnisse verursachen.
f) Striktes Befolgen der Anleitungen und Verwendung des erforderlichen Arbeitmaterials sind unerlässlich. Das Arbeitsmaterial sollte regelmässig entsprechend der GLP - Richtlinien überprüft werden.
g) Eine unzureichende Waschphase oder das Vorliegen humaner Globuline in den verwendeten Glasgeräten kann eine Neutralisation des Antihumanglobulinserums bewirken und folglich zu einer fälschlicherweise schwachen oder negativen Reaktion führen.
h) Zu starkes Aufschütteln der Erythrozytensedimente kann eine Abschwächung der positiven Reaktionen bewirken.

Literatur

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Produkte

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL .....REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL .....REF 109793

Für diese Produkte wird nur Garantie übernommen, wenn sie gemäss den Angaben auf dem Etikett und der Anwendungsvorschrift verwendet werden. Jegliche Verantwortung wird ausdrücklich abgelehnt, wenn das Präparat für andere Zwecke gebraucht oder verkauft wird.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Schweiz

CE 0123

“DiaCell I+II” e “DiaCell I+II+III”
Reagenti eritrocitici per screening anticorporale

Introduzione

L’attendibilità della rilevazione degli anticorpi dipende in larga misura da emazie testo con antigeni appropriati e dalla sensibilità dei metodi d’analisi utilizzati.

Per l’identificazione di anticorpi irregolari é necessario che le emazie che costituiscono il pannello siano predisposte accuratamente dal punto di vista antigenico. E’ anche opportuno, per prevenire l’“effetto dose“ che gli antigeni appartenenti ai sistemi Rh, Duffy, Kidd e MNS siano presenti in forma omozigote. Alcune direttive richiedono la presenza nel pannello degli antigeni appartenenti al sistema Lewis, e dell’antigene raro Kp(a) (KEL3).

In linea generale si considera più efficace eseguire lo screening anticorpale sia con il test indiretto per l’antiglobulina (IAT) che con tecniche enzimatiche, poiché questa combinazione aumenta la reattività di determinati anticorpi, in particolare quelli dei sistemi Rh, Kell e Kidd.

In considerazioni di tali esigenze, DiaMed offre reagenti eritrocitici pronti all’uso per il test indiretto per l’antiglobulina (IAT) e èper la tecnica enzimatica monofase o il rilevamento di agglutinine fredde con procedimento appropriato.

Reagenti

IVD

Eritrociti del gruppo sanguigno O di singoli donatori, in una sospensione al 3,0% ±1,0, in flaconi da 10 mL.

Conservanti: trimetoprim e sulfametoxazolo.

• “DiaCell I+II” ($R_1R_1+R_2R_2$) o ($R_1^wR_1+R_2R_2$)

• “DiaCell I+II+III” ($R_1^wR_1+R_2R_2+rr$)

Attenzione: *i materiali originari da cui sono stati ottenuti questi prodotti sono risultati non reattivi a HBsAg, HCV e HIV (1+2) all’analisi con reagenti autorizzati. Tuttavia non esiste alcun metodo di analisi noto che possa garantire l’assenza di agenti infettivi. I prodotti derivati dal sangue umano devono essere sempre considerati potenzialmente infettivi.*

2 °C – 8 °C

Stabilità: vedere la data di scadenza sull’etichetta.

Altri reagenti occorrenti

• soluzione salina isotonica allo 0,9%
• agenti di potenziamento come albumina bovina 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• reagente enzimatico come “DiaBrom“ da utilizzarsi in tecniche enzimatiche (Id-n°: 12140)
• siero all’antiglobulina umana come “DiaClon Coombs-serum“(Id-n°: 14060 o 14070)
• DiaLISS (Id-n°: 16070)

(consultare la relativa scheda tecnica)

Altri materiali occorrenti

• Provette per sospensione
• Rack per provette
• Pipetta
• Centrifuga per immunoematologia

Campioni

Per ottenere risultati attendibili, si consiglia di eseguire la determinazione su un campione fresco o conforme alle procedure del laboratorio per i criteri di accettazione dei campioni. I campioni devono essere prelevati preferibilmente in citrato, EDTA o CPD-A. Si possono comunque usare anche campioni prelevati in provette normali (senza anticoagulante).
Se si richiede l’uso di siero invece che di plasma, il siero deve essere ben chiarificato mediante centrifugazione a 1500 g per 10 minuti prima dell’uso per evitare ogni residuo di fibrina che possa interferire con il pattern di reazione.

Preparazione del campione

a) Sospensione di eritrociti per autocontrollo

Preparare una sospensione di eritrociti al 3-5% in soluzione isotonica salina nel modo seguente:

1. Pipettare 0,5 mL di soluzione salina isotonica in una provetta pulita.
2. Aggiungere 1 goccia (50 µL) di sangue intero o 25 µL di emazie concentrate, mescolare delicatamente.

b) Plasma o siero

I campioni che non devono essere analizzati immediatamente vanno conservati a 2-8 °C dopo la separazione per un massimo di 48 ore, successivamente a -20 °C.

Controlli

Si consiglia di includere sempre controlli noti positivi e negativi in conformità alle direttive vigenti in materia di garanzia di qualità.

Procedimento to teste

I. Test all’antiglobulina umana con albumina bovina in 3 fasi
Prima dell’uso portare i reagenti eritrocitici a temperatura ambiente.

1. fase (fase NaCl):
1. Identificare le provette di prova con le corrispondenti emazie testo “DiaCell I+II”o “DiaCell I+II+III” e l’autocontrollo.
2. Pipettare in ogni provetta 1 goccia (50 µL) delle corrispondenti emazie testo o della sospensione di eritrociti del paziente o del donatore per l’autocontrollo.
3. Aggiungere a ciascuna provetta 2 gocce (100 µL) del siero o del plasma da analizzare.
4. Miscelare delicatamente e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
6. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l’eventuale agglutinazione e/o emolisi.

2. fase (fase albumina):
7. Pipettare in ogni provetta 3 gocce (150 µL) di albumina bovina al 30%.
8. Miscelare delicatamente e incubare per 15-30 minuti a 37 °C.
9. Centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
10. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l’eventuale agglutinazione.

3. fase (fase antiglobulina umana):
11. Lavare il contenuto delle provette per 3 volte con soluzione salina isotonica, quindi rimuovere il surnatante.
12. Aggiungere ad ogni provetta 1-2 gocce (100 µL) di “DiaClon Coombs-serum“.
13. Miscelare leggermente e centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
14. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l’eventuale agglutinazione.
15. Confermare le reazioni negative con “DiaMed Coombs-Control IgG“.

“DiaCell I+II” y “DiaCell I+II+III”
Hematíes reactivo para el escrutinio de anticuerpos irregulares

Introducción

La fiabilidad de los escrutinios de anticuerpos depende en gran medida de la disponibilidad de células reactivo con una dotación adecuada y de la sensibilidad de los métodos empleados.

Los criterios de selección o los requerimientos de configuración antigénica de las células son muy rigurosos, deben asegurar la detección de todos los anticuerpos irregulares clínicamente significativos. Como algunos de estos anticuerpos presentan un efecto de dosis, es recomendable que los hematíes reactivo posean antígenos con una expresión homocigótica en los sistemas de grupo sanguíneo Rh, Duffy, Kidd y MNS. Algunas directrices exigen la presencia del antígeno Lewis, y también la del antígeno infrecuente Kp(a) (KEL3).

Generalmente se considera que lo más eficaz es combinar dos procedimientos, la prueba de antiglobulina indirecta (PAI) y una técnica enzimática, la cual intensifica la reactividad de determinados anticuerpos, especialmente los dirigidos contra antígenos de los sistemas Rh, Kell y Kidd.

Teniendo en cuenta estos requisitos, DiaMed proporciona reactivos eritrocitarios para ser empleados en la pruebas de antiglobulina indirecta (PAI), para la técnica enzimática en una fase o para la detección de aglutininas frías según el método correspondiente.

Reactivos

IVD

Eritrocitos del grupo O de donantes únicos, en una suspensión al 3,0% ±1,0, en frascos de 10 mL.

Conservantes: los antibióticos trimetoprim y sulfametoxazol.

• “DiaCell I+II” ($R_1R_1+R_2R_2$) o ($R_1^wR_1+R_2R_2$)

• “DiaCell I+II+III” ($R_1^wR_1+R_2R_2+rr$)

Precaución: *los materiales utilizados en la elaboración de estos productos resultaron ser no reactivos para HBsAg, VHC y VIH (1+2) en pruebas con reactivos autorizados. Sin embargo, no se conoce ningún método de prueba que pueda garantizar completamente la ausencia de agentes infecciosos. Los productos derivados de sangre humana deben considerarse como potencialmente infecciosos.*

2 °C – 8 °C

Estabilidad: véase fecha de caducidad en la etiqueta.

Reactivos adicionales necesarios

• Solución salina isotónica al 0,9%
• Agentes potenciadores, por ejemplo albúmina bovina al 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• Reactivos enzimáticos como “DiaBrom” para su uso en técnicas enzimáticas (Id-n°: 12140)
• Suero antiglobulina humana (AHG), por ejemplo “DiaClon Coombs-serum” (Id-n°: 14060 o 14070)
• Eritrocitos recubiertos con IgG, por ejemplo “Coombs-Control IgG” (Id-n°: 16070)

(véase el prospecto correspondiente)

Otros materiales necesarios

• Tubos de suspensión
• Gradilla para tubos
• Pipeta
• Centrífuga inmunohematológica

Muestras

Para un resultado óptimo, la determinación debe realizarse con una muestra recién extraída, o cumpliendo la normativa local del laboratorio en cuanto a criterios de aceptabilidad de las muestras. Preferiblemente, las muestras de sangre deben recogerse utilizando citrato, EDTA o CPD-A como anticoagulante. También es posible utilizar muestras recogidas en tubos sin anticoagulante.
Cuando sea necesario emplear suero en vez de plasma, el suero debe someterse a una centrifugación a 1500 g durante 10 minutos antes de su uso, para evitar la presencia de residuos de fibrina que podrían interferir con el patrón de reacción.

Preparación de las muestras de sangre

a) Suspensión de eritrocitos para autocontrol

Prepare una suspensión de eritrocitos al 3-5% en solución salina isotónica como sigue:

1. Pipetee 0,5 mL de solución salina isotónica en un tubo limpio.
2. Añada 1 gota (50 µL) de sangre completa o 25 µL de concentrado de eritrocitos y agite suavemente.

b) Plasma o suero

Las muestras que no vayan a analizarse inmediatamente deben conservarse a 2 y 8 °C después de la separación durante un máximo de 48 horas, y posteriormente a -20 °C.

Controles

Deben incluirse muestras positivas y negativas conocidas de acuerdo con las directrices de garantía de calidad aplicables.

Procedimientos de las pruebas

I. Prueba de la antiglobulina humanaen 3 pasos con albúmina bovina
Deje que los hematíes reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de usarlos.

1er paso (fase NaCl):
1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes reactivo de “DiaCell I+II”o “DiaCell I+II+III” y del autocontrol.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 µL) de los hematíes reactivo correspondientes, o de la suspensión de eritrocitos del paciente o donante en el caso del autocontrol.
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) del suero o plasma que debe analizarse.
4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugue 20 segundos a 1000 g ó 1 minuto a 125 g.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación o hemólisis.

2er paso (fase de albúmina):
7. Añada a cada tubo 3 gotas (150 µL) de albúmina bovina al 30%.
8. Agite suavemente e incube durante 15-30 minutos a 37 °C.
9. Centrifugue 20 segundos a 1000 g ó 1 minuto a 125 g.
10. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación.

3er paso (fase de antiglobulina humana):
11. Lave 3 veces el contenido de los tubos con solución salina isotónica y elimine el sobrenadante.
12. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) de “DiaClon Coombs-serum“.
13. Mezcle suavemente y centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ó 1 minuto a 125 g.
14. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación.
15. Confirme los resultados negativos con “DiaMed Coombs-Control IgG“.

“DiaCell I+II” e “DiaCell I+II+III”
Eritrócitos-teste pesquisa de anticorpos

Introdução

A fiabilidade da detecção de anticorpos depende, em grande medida, da disponibilidade de eritrócitos teste com os antigénios apropriados, bem como da sensibilidade dos métodos de teste utilizados.

Os requisitos para configuração de anticorpos são rigorosos: têm de permitir a detecção de anticorpos com potencial significado clínico. Dado que alguns anticorpos apresentam efeito de dosagem, os eritrócitos de pesquisa deveriam possuir antigénios em forma supostamente dupla dentro dos grupos sanguíneos Rh, Duffy, Kidd e MNS. Certas directrizes exigem a presença do antígeno Lewis, bem como do antigénio raro Kp(a) (KEL3).

De um modo geral é considerado mais eficaz combinar dois métodos de teste, o teste de antiglobulina indirecto (TAI) e uma técnica enzimática, a qual melhora a reactividade de certos anticorpos, nomeadamente nos sistemas Rh, Kell e Kidd.

Tendo em conta estas necessidades, a DiaMed fornece eritrócitos-teste para o TAI, uma técnica enzimática de um só passo para detecção de aglutinininas frias pelo método adequado.

Reagentes

IVD

Eritrócitos do grupo O de dadores únicos, em suspensão a 3,0% ±1,0, em frascos de 10 mL.

Conservantes: os antibióticos trimetoprim e sulfametoxazol.

• “DiaCell I+II” ($R_1R_1+R_2R_2$) ou ($R_1^wR_1+R_2R_2$)

• “DiaCell I+II+III” ($R_1^wR_1+R_2R_2+rr$)

Atenção: *As matérias-primas com que estes produtos foram produzidos não revelaram qualquer reacção a HBsAg, VHC e VIH (1+2) quando foram testadas com os reagentes aprovados. No entanto, nenhum método de teste conhecido pode garantir a ausência de agentes infecciosos. Os produtos originários de sangue humano devem ser considerados potencialmente infecciosos.*

2 °C – 8 °C

Estabilidade: ver prazo de validade no rótulo.

Reagentes adicionais necessários

• solução isotónica salina a 0,9%
• Agentes potencializadores, como a albumina bovina 30% (Id-n°: 11940)
• DiaLISS (Id-n°: 12060)
• Reagentes enzimáticos tais como “DiaBrom” para utilização em técnicas enzimáticas (Id-n°: 12140)
• Soro de antiglobulina humana (AGH), como “DiaClon Coombs-serum” (Id-n°: 14060 ou 14070)
• Eritrócitos revestidos com IgG como no “Coombs-Control IgG” (Id-n°: 16070)

(ver folheto informativo correspondente)

Outros materiais necessários

• Tubos de Suspensão
• Suporte para tubos
• Pipeta
• Centrífuga imuno-hematológica

Amostras

Para obtenção dos resultados ideais, a determinação deve ser realizada numa amostra recentemente colhida, ou em conformidade com os critérios de aceitação do procedimento laboratorial local. As amostras de sangue devem, de preferência, ser colhidas em anticoagulante citrato, EDTA ou CPD-A. Também é possível utilizar amostras colhidas em tubos limpos (sem anticoagulante).
Sempre que for preferível utilizar soro em vez de plasma, o soro deve ser bem limpo por centrifugação a 1500 g durante 10 minutos antes de ser utilizado, a fim de evitar resíduos de fibrinas que poderiam interferir com o padrão da reacção.

Preparação da amostra de sangue

a) Suspensão de eritrócitos para autocontrolo

Prepare uma suspensão de eritrócitos a 3-5% em solução isotónica salina do seguinte modo:

1. Dispense 0,5 mL de solução isotónica salina num tubo de vidro limpo.
2. Adicione 1 gota (50 µL) de sangue total ou 25 µL de concentrado de eritrócitos; misture suavemente.

b) Plasma ou soro

No caso das amostras não serem testadas imediatamente, deverão ser conservadas a 2-8 °C após decantação no máximo durante 48 horas, em seguida a -20 °C.

Controlos

Amostras positivas e negativas conhecidas devem ser incluídas em conformidade com as directrizes relevantes para controlo da qualidade.

Procedimentos do teste

I. Teste de antiglobulina humana com albumina bovina em 3 passos
Antes de utilizar, deixe os eritrócitos-teste atingirem a temperatura ambiente.

1° passo (fase NaCl):
1. Identifique os tubos de teste com os eritrócitos correspondentes do “DiaCell I+II”ou do “DiaCell I+II+III” e do autocontrolo.
2. A cada tubo adicione 1 gota (50 µL) dos eritrócitos-teste correspondentes e da suspensão eritrocitária do doente ou do dador.
3. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) do soro ou plasma a testar.
4. Misture suavemente e incube durante 5 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
6. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação e/ou de hemólise sobre uma fonte de luz indirecta .

2° passo (fase albumínica):
7. Adicione a cada tubo 3 gotas (150 µL) de albumina bovina a 30%.
8. Misture bem e incube durante 15-30 minutos a 37 °C.
9. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
10. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indirecta.

3° passo (fase da antiglobulina humana):
11. Lave o conteúdo dos tubos 3 vezes em solução isotónica salina e retire o sobrenadante.
12. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) de “DiaClon Coombs-serum“.
13. Misture suavemente e centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
14. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indirecta.
15. Confirme os resultados negativos com “DiaMed Coombs-Control IgG“.

II. Teste enzimático (com "DiaBrom")

1. Identifique os tubos de teste com os eritrócitos correspondentes do "DiaCell I+II" ou do "DiaCell I+II+III" e do autocontrolo.
2. A cada tubo adicione 1 gota (50 µL) de eritrócitos-teste correspondentes e de suspensão de eritrócitos do doente ou do dador para autocontrocolo.
3. A cada tubo adicione 1 gota (50 µL) de "DiaBrom".
4. Misture suavemente e incube durante 1-2 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) do soro ou plasma a testar.
6. Misture suavemente e incube durante 15 minutos a 37 °C (não ultrapasse os 15 minutos).
7. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
8. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indirecta.

III. Técnica LISS com DiaLISS (reagente LISS modificado)

1° passo (Fase NaCl):

1. Identifique os tubos de teste com os eritrócitos correspondentes do "DiaCell I+II" ou do "DiaCell I+II+III" e do autocontrolo.
2. A cada tubo adicione 1 gota (50 µL) dos eritrócitos-teste correspondentes e da suspensão eritrocitária do doente ou do dador.
3. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) do soro ou plasma a testar.
4. Misture suavemente e incube durante 5 minutos à temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
6. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indirecta .

2° passo (fase da antiglobulina humana-LISS):

7. Adicione a cada tubo 4 gotas (200 µL) de "DiaLISS".
8. Misture suavemente e incube durante 5-10 minutos a 37 °C.
9. Lave 3 vezes o conteúdo dos tubos em solução isotónica salina e remova o sobrenadante.
10. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) de "DiaClon Coombs-serum".
11. Misture suavemente e centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
12. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação sobre uma fonte de luz indirecta.
13. Confirme as reacções negativas com "DiaMed Coombs-Control IgG".

IV. Teste de detecção de aglutininas frias

1. Identifique os tubos de teste com os eritrócitos correspondentes do "DiaCell I+II" ou do "DiaCell I+II+III" e do autocontrolo.
2. A cada tubo adicione 1 gota (50 µL) dos eritrócitos-teste correspondentes e da suspensão eritrocitária do doente ou do dador.
3. Adicione a cada tubo 2 gotas (100 µL) do soro ou plasma a testar.
4. Misture suavemente e incube durante 30 minutos a 4 °C.
5. Centrifugue durante 20 segundos a 1000 g ou durante 1 minuto a 125 g.
6. Volte a suspender suavemente os eritrócitos e verifique macroscopicamente sinais de aglutinação e/ou de hemólise sobre uma fonte de luz indirecta.

Interpretação dos resultados

Reacções para Pesquisa de Anticorpos

• Uma reacção negativa indica a ausência de anticorpos irregulares detectáveis no soro ou plasma do doente ou dador.
• Uma reacção positiva indica a presença de anticorpos irregulares. Introduza as reacções obtidas no quadro de antigénios. Verifique se o número de lote dos eritrócitos-teste "DiaCell I+II" ou "DiaCell I+II+III" corresponde ao número de lote indicado no quadro de antigénios. Consoante o tipo de reacção e de configuração antigénica, é possível indicar o tipo de anticorpo presente. Realize os testes complementares habituais para identificar os anticorpos.
• Uma reacção positiva com um ou mais eritrócitos-teste e um autocontrolo negativo sugerem a presença de um anticorpo específico (tal como descrito em Observações).
• Uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste e um autocontrolo positivo podem dever-se a um auto-anticorpo.
• No caso de uma reacção positiva com todos os eritrócitos-teste e um autocontrolo positivo, mas com um ou mais eritrócitos-teste com reacção positiva mais pronunciada do que o autocontrolo, a amostra do doente deve ser sujeita a testes complementares para investigar a possibilidade de aloanticorpo subjacente.

Observações

1. Recomenda-se a utilização do soro de controlo "DiaLISS" para monitorizar a eficácia do teste LISS antiglobulina humana (por favor consulte o folheto informativo do "DiaLISS" e "DiaLISS control").
2. A hemólise dos eritrócitos-teste, em qualquer procedimento, deve ser interpretada como reacção positiva.
3. Tal como com todos os procedimentos abrangidos pelas regras de BPL (Boa Prática de Laboratório), a sensibilidade dos procedimentos acima deve ser validada através da utilização de anticorpos de concentração conhecida. O reagente de referência DiaMed Anti-D permite a realização de controlos regulares de todos os procedimentos de detecção de anticorpos (ver folheto informativo correspondente).

Limitações

a) Os métodos enzimáticos de uma fase são conhecidos por serem menos sensíveis na detecção de anticorpos do que as técnicas de duas fases.
b) As condições ideais de reacção podem variar consideravelmente de um tipo de anticorpo para outro. Por conseguinte, um único método de teste pode revelar-se insuficiente para detectar todos os anticorpos, devendo combinar-se diferentes procedimentos de teste.
c) É sabido que certos fármacos desencadeiam reacções positivas em testes de antiglobulina humana.
d) Também foram descritos alguns estados patológicos como origem de reacções positivas em testes de antiglobulina humana.
e) A contaminação, bacteriana ou outra, dos materiais utilizados pode originar resultados falsamente positivos ou falsamente negativos.
f) O cumprimento estrito dos procedimentos e a utilização do equipamento recomendado são essenciais. O equipamento deve ser verificado regularmente em conformidade com os procedimentos de BPL.
g) Uma fase de lavagem inadequada, ou a presença de globulinas humanas nos tubos, pode neutralizar o soro da antiglobulina humana, tendo por resultado uma reacção fraca ou falsamente negativa.
h) A agitação inadequada no final do procedimento pode reduzir a positividade das reacções.

Bibliografia

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Produtos

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL . . . . . .REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL . . . . . .REF 109793

Estes produtos são garantidos quanto ao seu comportamento funcional, tal como descrito no rótulo e no folheto informativo. O fabricante declina toda a responsabilidade decorrente da utilização ou venda destes produtos para fins diferentes dos ai descritos..

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Suíça
CE 0123

II. Prueba enzimática (con "DiaBrom")

1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes del "DiaCell I+II"o "DiaCell I+II+III" y del autocontrol.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 µL) de los eritrocitos de prueba correspondientes, o de la suspensión de eritrocitos del paciente o donante en el caso del autocontrol.
3. Añada a cada tubo 1 gota (50 µL) de "DiaBrom"
4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 1-2 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) del suero o plasma que debe analizarse.
6. Agite suavemente e incube durante 15 minutos a 37 °C (no supere los 15 minutos).
7. Centrifugue 20 segundos a 1000 g o 1 minuto a 125 g.
8. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación o hemolisis.

III. Técnica de LISS con DiaLISS (reactivo de LISS modificado)

1er paso (fase NaCl):

1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes reactivo del "DiaCell I+II"o "DiaCell I+II+III" y del autocontrol.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 µL) de los eritrocitos de prueba correspondientes, o de la suspensión de eritrocitos del paciente o donante en el caso del autocontrol.
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) del suero o plasma que debe analizarse.
4. Mezcle cuidadosamente e incube durante 5 minutos a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugue 20 segundos a 1000 g o 1 minuto a 125 g.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación o hemolisis.

2er paso (fase de LISS antiglobulina humana):

7. Añada a cada tubo 4 gotas (200 µL) de "DiaLISS"
8. Agite suavemente e incube durante 5-10 minutos a 37 °C.
9. Lave 3 veces el contenido de los tubos con solución salina isotónica y elimine el sobrenadante.
10. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) de "DiaClon Coombs-serum".
11. Mezcle suavemente y centrifugue durante 20 segundos a 1000 g o 1 minuto a 125 g.
12. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación.
13. Confirme las reacciones negativas con "DiaMed Coombs-Control IgG".

IV. Prueba para detección de aglutininas frías

1. Identifique los tubos de ensayo correspondientes a los distintos hematíes reactivo del "DiaCell I+II"o "DiaCell I+II+III" y del autocontrol.
2. Añada a cada tubo 1 gota (50 µL) de los eritrocitos de prueba correspondientes, o de la suspensión de eritrocitos del paciente o donante en el caso del autocontrol.
3. Añada a cada tubo 2 gotas (100 µL) del suero o plasma que debe analizarse.
4. Mezcle suavemente e incube durante 30 minutos a 4 °C.
5. Centrifugue 20 segundos a 1000 g o 1 minuto a 125 g.
6. Resuspenda cuidadosamente los eritrocitos y realice una observación macroscópica sobre una fuente de luz indirecta comprobando si existe aglutinación o hemólisis.

Interpretación de los resultados

Reacciones para detección de anticuerpos

• Una reacción negativa indica la ausencia de anticuerpos irregulares detectables en el suero o plasma del paciente o donante.
• Una reacción positiva indica la presencia de anticuerpos irregulares. Introduzca las reacciones obtenidas en la tabla de antígenos. Verifique que el número de lote de los eritrocitos de prueba "DiaCell I+II" o "DiaCell I+II+III" corresponde al número de lote indicado en la tabla de antígenos. El patrón de las reacciones y la configuración de antígenos pueden indicar el tipo de anticuerpo presente. Realice las pruebas adicionales habituales para identificar el anticuerpo.
• Una reacción positiva con una o más de las células reactivas y un autocontrol negativo sugieren la presencia de un aloanticuerpo específico.
• Una reacción positiva con todos los hematíes reactivo y un autocontrol positivo puede deberse a un autoanticuerpo.
• Si existe una reacción positiva con todas las células reactivas y un autocontrol positivo, pero a su vez, se detecta que la reacción positiva con una o varias de las células reactivas es más intensa que la observada en el autocontrol, será preciso descartar en la muestra del paciente la posible presencia de un aloanticuerpo subyacente.

Observaciones

1. Es recomendable utilizar suero de control "DiaLISS" para comprobar la prueba LISS antiglobulina humana (consulte los prospectos de "DiaLISS" y "DiaLISS control").
2. La hemolisis de los hematíes reactivo en cualquier técnica debe interpretarse como reacción positiva.
3. Como en todos los procedimientos sujetos a las normas GLP (prácticas correctas de laboratorio), la sensibilidad de los procedimientos descritos debe validarse utilizando anticuerpos de potencia conocida. El reactivo de referencia DiaMed Anti-D permite realizar controles periódicos de todos los procedimientos para la detección de anticuerpos (véase el correspondiente prospecto).

Limitaciones

a) Se sabe que los métodos enzimáticos en una fase son menos sensibles en la detección de anticuerpos que la técnica enzimática en dos fases.
b) Las condiciones de reacción óptimas pueden variar considerablemente de un tipo de anticuerpo a otro. Por consiguiente, una única técnica en la detección de anticuerpos irregulares puede ser insuficiente para detectarlos todos, es muy útil emplear técnicas combinadas para su estudio.
c) Algunos fármacos pueden dan lugar a reacciones positivas en las pruebas con antiglobulina humana.
d) También se ha referido que algunos estados patológicos pueden provocar reacciones positivas en este tipo de pruebas.
e) La contaminación de los materiales empleados, bacteriana o de otro tipo, puede provocar falsos positivos o falsos negativos.
f) Es esencial atenerse estrictamente a los procedimientos y equipos recomendados. El equipo debe comprobarse periódicamente según la normativa de prácticas de laboratorio correctas (GLP).
g) Una fase de lavado inadecuada o la presencia de globulinas humanas en el material de vidrio puede neutralizar el suero antiglobulina humana y dar lugar a una reacción falsamente débil o negativa.
h) Una agitación inadecuada en el proceso final de lectura puede debilitar las reacciones positivas.

Bibliografía

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Productos

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL . . . . . .REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL . . . . . .REF 109793

Se garantiza que estos productos se comportarán según lo descrito en la etiqueta y en la hoja de instrucciones. El fabricante declina toda responsabilidad en caso de que los productos se utilicen o vendan para cualquier otro uso diferente de los allí descritos.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Suiza
CE 0123

II. Test enzimatico (con "DiaBrom")

1. Identificare le provette di prova con le corrispondenti emazie teste di "DiaCell I+II" o "DiaCell I+II+III" e l'autocontrollo.
2. Pipettare in ogni provetta 1 goccia (50 µL) deile corrispondenti emazie teste e della sospensione di eritrociti del paziente o del donatore per l'autocontrollo.
3. Aggiungere in ogni provetta 1 goccia (50 µL) di "DiaBrom".
4. Miscelare delicatamente e incubare per 1-2 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Aggiungere a ciascuna provetta 2 gocce (100 µL) del siero o del plasma da analizzare.
6. Miscelare delicatamente e incubare per 15 minuti a 37 °C (non superare 15 minuti).
7. Centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
8. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l'eventuale agglutinazione e/o emolisi.

III. Tecnica LISS con DiaLISS (reagente mod. LISS)

1. fase (fase NaCl):

1. Identificare le provette di prova con le corrispondenti emazie testo di "DiaCell I+II" o "DiaCell I+II+III" e l'autocontrollo.
2. Pipettare in ogni provetta 1 goccia (50 µL) deile corrispondenti emazie testo e della sospensione di eritrociti del paziente o del donatore per l'autocontrollo.
3. Aggiungere a ciascuna provetta 2 gocce (100 µL) del siero o del plasma da analizzare.
4. Miscelare delicatamente e incubare per 5 minuti a temperatura ambiente (18-25 °C).
5. Centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
6. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l'eventuale agglutinazione e/o emolisi.

2. fase (fase antiglobulina umana-LISS):

7. Aggiungere in ogni provetta 4 gocce (200 µL) di "DiaLISS".
8. Miscelare delicatamente e incubare per 5-10 minuti a 37 °C.
9. Lavare il contenuto delle provette per 3 volte con soluzione salina isotonica, quindi rimuovere il surnatante.
10. Aggiungere ad ogni provetta 1-2 gocce (100 µL) di "DiaClon Coombs-serum".
11. Miscelare delicatamente e centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
12. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l'eventuale agglutinazione.
13. Confermare le reazioni negative con "DiaMed Coombs-Control IgG".

IV. Test per il rilevamento di agglutinine fredde

1. Identificare le provette di prova con le corrispondenti emazie testo di "DiaCell I+II" o "DiaCell I+II+III" e l'autocontrollo.
2. Pipettare in ogni provetta 1 goccia (50 µL) deile corrispondenti emazie testo e della sospensione di eritrociti del paziente o del donatore per l'autocontrollo.
3. Aggiungere a ciascuna provetta 2 gocce (100 µL) del siero o del plasma da analizzare.
4. Miscelare delicatamente e incubare per 30 minuti a 4 °C.
5. Centrifugare per 20 secondi a 1000 g o per 1 minuto a 125 g.
6. Risospendere delicatamente gli eritrociti e, su una sorgente luminosa indiretta, sottoporre a osservazione macroscopica l'eventuale agglutinazione e/o emolisi.

Interpretazione dei risultati

Reazioni per screening degli anticorpi

• Una reazione negativa indica l'assenza di anticorpi irregolari rilevabili nel siero o plasma del paziente o del donatore.
• Una reazione positiva indica la presenza di anticorpi irregolari. Riportare nella tabella antigenica le reazioni ottenute. Verificare che il numero di lotto dei reagenti eritrocitici "DiaCell I+II" o "DiaCell I+II+III" utilizzati corrisponda al numero di lotto indicato dalla tabella degli antigeni. Dal pattern di reazione e dalla configurazione degli antigeni si può risalire al tipo degli anticorpi presenti. Eseguire gli altri test consueti per identificare l'anticorpo.
• Una reazione positiva per uno o più delle emazie testo e un autocontrollo negativo possono far pensare alla presenza di un anticorpo specifico (come descritto al punto Note).
• Una reazione positiva con tutte le emazie testo e un autocontrollo positivo possono essere dovuti a un autoanticorpo.
• Se tutte emazie testo e l'autocontrollo presentano una reazione positiva, ma almeno una della emazie testo presenta una reazione più nettamente positiva rispetto all'autocontrollo potrebbe essere presente un alloanticorpo e si dovranno effetuare ulteriori indagini.

Note

1. Si raccomanda di utilizzare siero di controllo "DiaLISS" per verificare l'efficacia del test per l'antiglobulina umana-LISS (consultare le istruzioni per l'uso "DiaLISS" e "DiaLISS control").
2. L'emolisi delle emazie testo in qualsiasi procedura deve essere interpretata come reazione positiva.
3. Come per ogni procedura regolamentata dalle norme GLP, per convalidare la sensibilità delle procedure sopra descritte si dovranno usare anticorpi di concentrazione nota. Il reagente di riferimento DiaMed Anti-D fornisce il mezzo per effettuare regolarmente controlli di tutte le procedure di rilevazione degli anticorpi (vedere il foglio di istruzioni allegato).

Limitazioni

a) È noto che i metodi enzimatici monofase sono meno sensibili per il rilevamento degli anticorpi rispetto alle tecniche a due fasi.
b) Le condizioni di reazione ottimali possono variare considerevolmente da un tipo di anticorpo all'altro. Ne consegue che un singolo procedimento di prova risulta insufficiente per rilevare tutti gli anticorpi, pertanto dovranno essere applicate procedure di prova combinate.
c) E' noto che certi medicinali possono causare reazioni positive nei test all'antiglobuline umane.
d) Anche alcune condizioni patologiche possono causare reazioni positive nei test all'antiglobuline umane.
e) Le contaminazioni batteriche o di altro tipo del materiale utilizzato possono essere causa di risultati falsamente negativi o positivi.
f) E' indispensabile seguire scrupolosamente le istruzioni e impiegare il materiale di lavoro raccomandato. Il materiale di lavoro deve essere controllato regolarmente secondo le direttive GLP.
g) Una fase di lavaggio inadeguata o la presenza di globuline umane nelle provette può neutralizzare il siero antiglobulina e quindi produrre reazioni falsamente deboli o negative.
h) Un'agitazione inadeguata nella fase finale del test può indebolire reazioni positive.

Bibliografia

1. Technical Manual: 13th ed., 1999; American Association of Blood Banks.

Prodotti

"DiaCell I+II" (Id-n°: 45220) 2 x 10 mL . . . . . .REF 109792
"DiaCell I+II+III" (Id-n°: 45230) 3 x 10 mL . . . . . .REF 109793

Si garantiscono per questi prodotti le prestazioni descritte sull'etichetta e nel foglio di istruzioni. Il produttore declina ogni responsabilità derivante dall'uso improprio o dalla vendita di questi prodotti per scopi diversi da quelli qui descritti.

DiaMed AG, 1785 Cressier s/Morat, Svizzera
CE 0123